

# DIN EN 16777:2019-03 (D)

**Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Versuch auf nicht porösen Oberflächen ohne mechanische Einwirkung zur Bestimmung der viruziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich - Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2); Deutsche Fassung EN 16777:2018**

---

| <b>Inhalt</b>                                                                                                                      | <b>Seite</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Europäisches Vorwort.....                                                                                                          | 4            |
| Einleitung .....                                                                                                                   | 5            |
| 1 Anwendungsbereich.....                                                                                                           | 6            |
| 2 Normative Verweisungen .....                                                                                                     | 6            |
| 3 Begriffe .....                                                                                                                   | 7            |
| 4 Anforderungen an die viruzide Wirkung auf Oberflächen .....                                                                      | 7            |
| 5 Prüfverfahren.....                                                                                                               | 9            |
| 5.1 Kurzbeschreibung.....                                                                                                          | 9            |
| 5.2 Materialien und Reagenzien, inklusive Zellkulturen .....                                                                       | 9            |
| 5.2.1 Prüfkeime .....                                                                                                              | 9            |
| 5.2.2 Kulturmedien, Reagenzien und Zellkulturen.....                                                                               | 10           |
| 5.3 Apparate und Glasgeräte .....                                                                                                  | 14           |
| 5.3.1 Allgemeines .....                                                                                                            | 14           |
| 5.3.2 Übliche mikrobiologische Laborausrüstung .....                                                                               | 14           |
| 5.3.3 Prüfflächen .....                                                                                                            | 15           |
| 5.4 Herstellung der Prüfkeimsuspensionen und der Produktprüflösungen .....                                                         | 16           |
| 5.4.1 Prüfkeimsuspensionen (Prüfvirus suspension) .....                                                                            | 16           |
| 5.4.2 Produktprüflösung .....                                                                                                      | 16           |
| 5.5 Verfahrensablauf zur Beurteilung der viruziden Wirkung des Produkts .....                                                      | 17           |
| 5.5.1 Versuchsbedingungen .....                                                                                                    | 17           |
| 5.5.2 Prüfverfahren .....                                                                                                          | 18           |
| 5.5.3 Durch Produktlösungen verursachte Zytotoxizität .....                                                                        | 20           |
| 5.5.4 Überprüfung der Wirksamkeit der Unterdrückung der Wirkung eines Desinfektionsmittels .....                                   | 21           |
| 5.5.5 Referenz-Inaktivierungsprüfung von Viren .....                                                                               | 21           |
| 5.5.6 Titration der Viruskontrollprobe .....                                                                                       | 21           |
| 5.6 Versuchsdaten und Berechnung.....                                                                                              | 22           |
| 5.6.1 Protokollierung der Ergebnisse .....                                                                                         | 22           |
| 5.6.2 Berechnung des Infektiositätstiters (TCID <sub>50</sub> bzw. PFU) .....                                                      | 22           |
| 5.7 Verifizierung des Verfahrens .....                                                                                             | 22           |
| 5.8 Auswertung .....                                                                                                               | 23           |
| 5.8.1 Allgemeines .....                                                                                                            | 23           |
| 5.8.2 Berechnung der viruziden Wirkung von Produkten .....                                                                         | 23           |
| 5.9 Prüfbericht .....                                                                                                              | 24           |
| Anhang A (informativ) Beispiele für Viren, sortiert nach ihrem Vorkommen im menschlichen Körper im Falle einer Virusinfektion..... | 26           |
| Anhang B (normativ) Entgiftung von Prüfgemischen durch Molekularsiebung .....                                                      | 28           |
| B.1 Molekularsiebung mit Sephadex™ LH 20.....                                                                                      | 28           |
| B.1.1 Kurzbeschreibung.....                                                                                                        | 28           |
| B.1.2 Sephadex-Suspension .....                                                                                                    | 28           |
| B.1.3 Durchführung .....                                                                                                           | 28           |

|                                                                        |                                                                                                                                           |    |
|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| B.2                                                                    | Molekulares Sieben mit MicroSpin™ S 400 HR .....                                                                                          | 30 |
| B.3                                                                    | Bestimmung des „Restvirus“-Titters mit der Large-Volume-Plating (LVP) Methode.....                                                        | 30 |
| B.3.1                                                                  | Allgemeines.....                                                                                                                          | 30 |
| B.3.2                                                                  | Beispiel für die Berechnung von Titern und der Reduktion nach der Large-Volume-Plating Methode.....                                       | 31 |
| Anhang C (informativ) Berechnung des viralen Infektiositätstiters..... |                                                                                                                                           | 33 |
| C.1                                                                    | Quantalversuche — Beispiel einer Bestimmung der TCID <sub>50</sub> nach dem Spearman-Kärber-Verfahren .....                               | 33 |
| C.2                                                                    | Plaque-Untersuchungen .....                                                                                                               | 34 |
| C.3                                                                    | Biometrische Bewertung von experimentellen Annäherungen und Beurteilung der desinfizierenden Wirkung auf den Virus (Reduktion [R]): ..... | 35 |
| C.3.1                                                                  | Allgemeines.....                                                                                                                          | 35 |
| C.3.2                                                                  | Berechnung des Virustiters mit 95 %-Vertrauensbereich — Beispiel.....                                                                     | 35 |
| C.3.3                                                                  | Berechnung der Reduktion und des zugehörigen 95 %-Vertrauensbereichs .....                                                                | 36 |
| C.3.4                                                                  | Berechnung der durchschnittlichen Reduktion ( $R_{(mi)}$ ) und des zugehörigen 95 %-Vertrauensbereichs .....                              | 37 |
| C.3.5                                                                  | Praktische Beispiele.....                                                                                                                 | 38 |
| Literaturhinweise .....                                                |                                                                                                                                           | 41 |